مطالعه تأثیر درجه حرارت و شوری بر رشد باکتری *Pseudomonas sp.* مقاوم به روی جداسازی شده از رسوبات خلیج‌فارس

راضیه لموچی[1*]
علیرضا صفاهیه[2]
نگین سلامات[3]
هاجر آبیار[4]

۱، ۴. دانش‌آموخته رشته آلودگی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران
۲، ۳. استادیار گروه زیست دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران

***مسئول مکاتبات:**
raziehlamoochi@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۳/۰۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۸/۰۱
کد مقاله: ۱۳۹۳۰۴۰۱۶۱
این مقاله برگرفته از پایان نامه دانشجویی است.

چکیده

جذب زیستی یک فن‌آوری مؤثر برای حذف بهینه آلاینده‌ها ازجمله فلزات سنگین از محلول‌های آبی است. در این مطالعه میکروارگانیسم مقاوم به روی از رسوبات خلیج‌فارس جداسازی و با انجام تست‌های بیوشیمیایی شناسایی گردید. در ادامه قابلیت رشد میکروارگانیسم شناسایی‌شده در حضور غلظت‌های مختلف فلز موردبررسی قرار گرفت. همچنین تأثیر فاکتورهای درجه حرارت و شوری بر رشد باکتری مطالعه و شرایط رشد آن تعیین گردید. باکتری *Pseudomonas sp.* به‌عنوان گونه مقاوم به روی جداسازی و با استفاده از تست‌هایی بیوشیمیایی و رجوع به منابع باکتریولوژیکی شناسایی شد. باکتری مذکور قادر به رشد تا غلظت‌های بالای این فلز یعنی ۳۲۰ میلی‌گرم بر لیتر بود و با افزایش غلظت روی در محیط رشد باکتری کاهش یافت. به‌گونه‌ای که حداکثر رشد باکتری در غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر این فلز ۰/۸۷ اندازه‌گیری شد و با افزایش غلظت روی در محیط به ۳۲۰ میلی‌گرم بر لیتر، رشد باکتری به ۰/۴ کاهش یافت که اختلاف معنی‌داری با حداکثر رشد باکتری در غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر فلز روی را نشان می‌داد($P\leq ۰/۰۵$). درجه حرارت مناسب برای رشد باکتری مذکور در این تحقیق ۲۵ درجه سانتی گراد بود و با حداکثر رشد باکتری در دمای ۱۵ و ۴۵ درجه سانتی گراد تفاوت معنی‌داری نشان داد($P\leq ۰/۰۵$). همچنین نتایج حاصل از تست هالو فیل، حاکی از هالوتولرانت بودن گونه فوق بود. با افزایش غلظت نمک از صفرتا ۴ درصد رشد باکتری افزایش‌یافته و در صورت افزایش نمک به غلظت‌های ۶، ۸ و ۱۰ درصد رشد به‌طور قابل‌توجهی کاهش یافت.

واژگان کلیدی: فلز روی، *Pseudomonas sp.*، شوری، درجه حرارت، خلیج‌فارس.

مقدمه

فلزات سنگین از جمله آلاینده‌های پایداری هستند که به دلیل عدم تجزیه زیستی و تمایل زیاد به تجمع در بدن موجودات آبزی و انتقال به سطوح بالاتر زنجیره غذایی، باعث تهدید سلامت انسان می‌گردند. از عمده راه‌های ورود فلزات سنگین به اکوسیستم‌های آبی می‌توان به پساب صنایع پتروشیمی، پساب‌های شهری و رواناب‌های کشاورزی و تردد کشتی‌ها اشاره کرد (Hussein *et al.*, 2009). خورموسی نیز ازجمله اکوسیستم هایی است که در معرض آلودگی با انواع آلاینده‌ها بخصوص فلزات‌سنگین قرار دارد. فعالیت مجتمع پتروشیمی بندر امام خمینی به عنوان بزرگ ترین پتروشیمی کشور واقع در ضلع شمال غربی خلیج فارس و در همجواری با خور موسی منجر به تخلیه پساب حاوی فلزات سنگین به این خور می‌گردد(جاوید و صمدیار، ۱۳۸۶). از آنجایی که خور موسی تامین کننده منابع شیلاتی و آبزیان مصرفی شهرهای اطراف می‌باشد، آلودگی رسوبات این خور به پساب صنایع احداث شده در اطراف آن اثرات نامطلوبی بر اکوسیستم خور، آبزیان و سلامت ساکنان منطقه خواهد گذاشت. از این‌رو

Archive of SID
www.SID.ir

جذب و پاکسازی محیط از این آلاینده‌ها لازم و ضروریست. فرایند جذب زیستی تکنولوژی جدیدی در زمینه حذف آلاینده‌ها از جمله فلزات سنگین براساس توانایی میکروارگانیسم‌ها می باشد. در این روش کاتیون‌های فلزی بر روی گروه‌های دارای بار منفی موجود در دیواره سلولی میکروارگانیسم باند شده و از دسترس خارج می‌گردند. در میان انواع جاذب‌های زیستی، باکتری ها به دلیل نسبت بالای سطح به حجم و برخورداری از سایت‌های فعال جذبی ، اندازه کوچک و توانایی رشد بالا گزینه مناسب‌تری بشمار می‌روند (Wang and chen., 2009).

در این زمینه مطالعات گسترده‌ای در جهان صورت گرفته است (Wang and chen., 2009). مطالعات قابل توجهی نیز در ایران بر روی پساب کارخانجات و صنایع انجام شده است (کریم سلمانی و همکاران، ۱۳۹۰; شکیبایی و همکاران، ۱۳۸۷; Khanafari *et al*., 2008). در حالی‌که در آب‌های گسترده خلیج فارس و منطقه خورموسی مطالعات صورت گرفته اندک بوده و می‌توان به بررسی های Zolgharnein و همکاران (۲۰۰۷)، Abyar و همکاران (۲۰۱۱) و Safahieh و همکاران (۲۰۱۲) اشاره کرد. از جمله اهداف موردنظر در تحقیق پیش رو جداسازی و خالص سازی باکتری مقاوم به فلز روی از رسوبات خلیج فارس،شناسایی باکتری جداسازی شده، تعیین رشد باکتری در غلظتهای مختلف از فلز روی و بررسی روند رشد باکتری در شوری و درجه حرارت های مختلف می باشد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری در مهر ماه ۱۳۸۹ با استفاده از گرب وین از لایه‌های سطحی رسوبات خورموسی در ۳ ایستگاه و با ۳ تکرار صورت گرفت. نمونه‌های مربوط به هر ایستگاه در ظروف شیشه‌ای درب دار و از قبل استریل شده قرارگرفته و در ظروف نگهداری یخ به آزمایشگاه منتقل شدند. در آزمایشگاه ابتدا نمونه‌های مربوط به هر ایستگاه در شرایط استریل با هم ترکیب و رقیق سازی گردید. در ادامه جهت جداسازی باکتری‌های مقاوم به روی، ۰/۱ میلی‌لیتر از رقت‌های تهیه شده از نمونه رسوب بر روی سطح محیط کشت نوترینت آگار حاوی غلظت‌های ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر محلول فلزی نیترات روی $Zn(No_3)_2$ ریخته شد. سپس نمونه‌ها در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد انکوباتور به مدت ۵-۳ روز قرار گرفتند. با اتمام مرحله جداسازی، کلنی‌های ظاهر شده بر سطح محیط کشت حاوی بالاترین غلظت از فلز روی به عنوان باکتری مقاوم نسبت به این فلز، برای خالص‌سازی و شناسایی با استفاده از تست های بیوشیمیایی و کتاب راهنمای برجی انتخاب شد (Leung *et al*., 2000; Chovanova *et al*., 2004; Dzairi *et al*., 2004).

برای سنجش رشد باکتری در غلظت‌های ۲۰، ۴۰، ۸۰، ۱۶۰ و ۳۲۰ میلی‌گرم بر لیتر روی یک میلی لیتر از سوسپانسیون باکتری که از قبل و مطابق با کدورت نیم مک فارلند (معادل 10^{8}-10^{7} CFU/ml) تهیه شده بود به محیط کشت LB broth (Luria-Bertani broth) حاوی غلظت‌های ذکرشده از فلز تلقیح گردید. سپس نمونه‌ها در انکوباتور شیکردار در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و در شرایط هوازی قرار گرفتند. سنجش رشد باکتری در فواصل زمانی ۱۲ ساعت به مدت ۵ روز با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل ۲۱۵۰ کمپانی Unico در طول موج ۶۰۰ نانومتر با ۳ تکرار اندازه‌گیری شد (Kim *et al*., 2007; Shirdam, 2006).

به منظور سنجش رشد باکتری در درجه‌حرارت‌های مختلف یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری به ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت LB broth تلقیح و در ادامه ارلن‌های حاوی محیط کشت و باکتری در دماهای ۱۵، ۲۵، ۳۵ و ۴۵ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور شیکردار با سرعت ۱۶۰ دور در دقیقه قرار گرفتند. رشد باکتری هر ۱۲ ساعت به مدت ۵ روز در طول موج ۶۰۰ نانومتر دستگاه اسپکتروفتومتر با ۳ تکرار سنجش گردید (Okanlawon *et al*., 2010).

برای بررسی توانایی رشد باکتری در غلظت‌های مختلف نمک تست هالوفیته انجام شد. یک میلی لیتر ازسوسپانسیون باکتری به ۲۰ میلی لیتر محیط کشت YP- براث (Yeast-Peptone broth) با غلظت‌های صفر، ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ درصد نمک تلقیح شد. سپس ارلن‌های حاوی محیط

Archive of SID
www.SID.ir

کشت و باکتری در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد در انکوباتورشیکردار با ۱۶۰ دور در دقیقه قرارگرفته و بعد از ۴۸ ساعت، توانایی تحمل غلظت‌های مختلف نمک از طریق ایجاد کدورت در محیط کشت بررسی گردید (ابراهیمی و همکاران، ۱۳۸۴).

به منظور بررسی روند رشد باکتری در غلظت‌های مختلف نمک در محیط کشت فوق سنجش رشد باکتری هر ۱۲ ساعت به مدت ۵ روز در طول موج ۶۰۰ نانومتر دستگاه اسپکتروفتومتر با ۳ تکرار صورت پذیرفت (Saleem Khan *et al*., 2009).

از آزمون Shapiro - Wilk برای بررسی نرمال بودن داده‌ها از لحاظ پراکنش استفاده شد. وجود تفاوت در رشد باکتری در غلظت های مختلف فلز و در شوری و درجه حرارت های متفاوت با استفاده از آنالیز واریانس یکطرفه (One way ANOVA) مورد بررسی قرار گرفت که در صورت وجود اختلاف معنی دار، برای جدا کردن گروه های مختلف از پس آزمون توکی استفاده گردید. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS 11.5 صورت گرفت و نرم افزار Excel برای رسم نمودارها به کار رفت.

نتایج

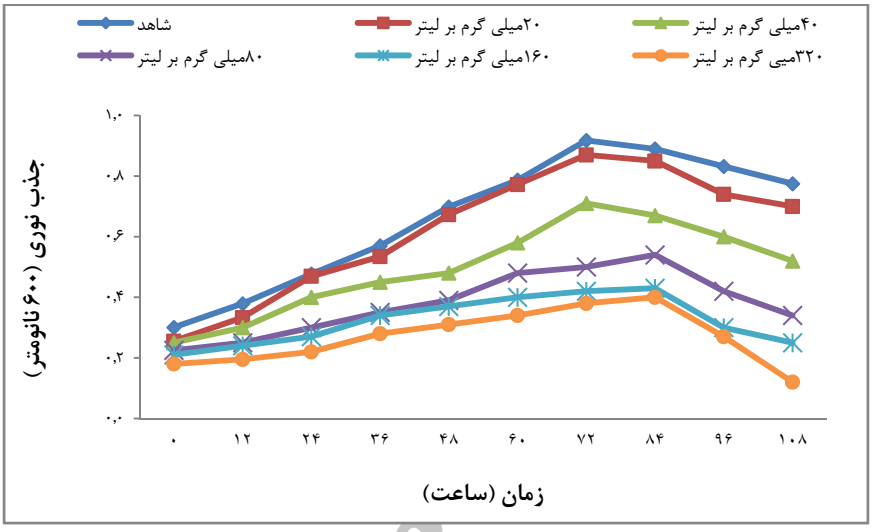
از میان انواع کلنی‌های ظاهر شده بر سطح محیط کشت، کلنی رشد یافته بر روی محیط کشت حاوی بالاترین غلظت نیترات روی $Zn(No_3)_2$ ، بر اساس خصوصیات ماکروسکوپی انتخاب و خالص‌سازی گردید. رنگ آمیزی گرم نشان داد که باکتری خالص شده یک باسیل گرم منفی می باشد. گرم منفی بودن باکتری با تست KOH نیز تایید گردید. نتایج حاصل از تست‌های بیوشیمیایی در جدول شماره ۱ آمده است.

جدول ۱: نتایج تست های بیوشیمیایی باکتری *Pseudomonas sp.* جداسازی شده.

تست بیوشیمیایی	نتیجه تست
رنگ آمیزی	–
شکل کلنی	میله ای
تست KoH	+
اکسیداز	+
کاتالاز	+
لاکتوز	–
اوره	+
لایزین	–
حرکت	–
اندول	–
TSI	رشد در سطح
سیترات	+
مکانکی	+
MR	+
VP	+
تشخیص	***Pseudomonas sp.***

Archive of SID
www.SID.ir

با افزایش غلظت فلز روی در محیط رشد باکتری *Pseudomonas sp.* نیز کاهش یافت، به‌طوری که حداکثر رشد باکتری در غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر ۰/۸۷ می‌باشد و در غلظت ۳۲۰ میلی‌گرم برلیتر این میزان به نصف کاهش می‌یابد. باکتری با افزایش غلظت فلز روی در محیط با تاخیر بیشتری وارد مرحله نمایی رشد خود می‌گردد و دیرتر به نهایت رشد خود می‌رسد. این در حالی است که باکتری در غلظت‌های ۲۰ و ۴۰ هم‌زمان با رشد باکتری در نمونه شاهد به حداکثر رشد خود می‌رسند (شکل ۱).

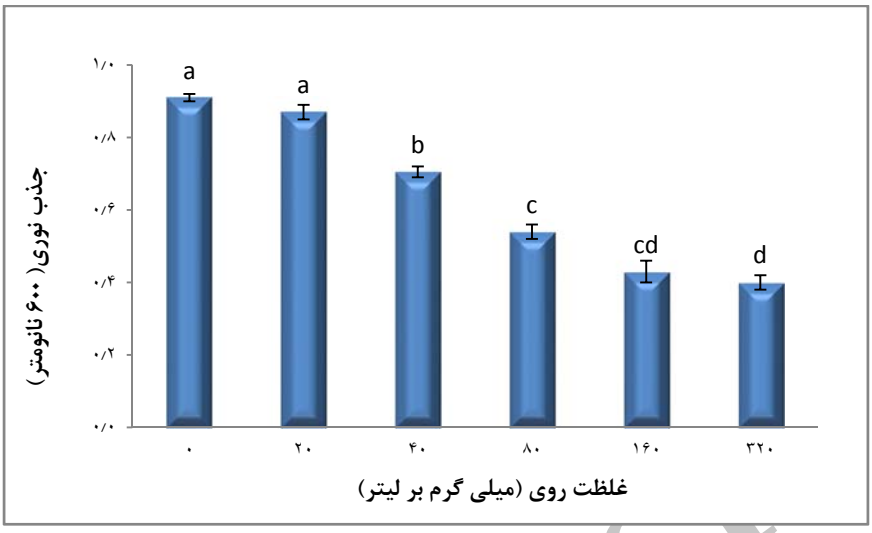


شکل ۱: نمودار رشد باکتری *Pseudomonas sp.* در غلظت‌های مختلف فلز روی.

با توجه به شکل ۲، رشد باکتری *Pseudomonas sp.* با افزایش فلز روی در محیط کاهش می‌یابد. بین حداکثر رشد باکتری در غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر با سایر غلظت‌ها اختلاف معنی دار بود ($P \leq ۰/۰۵$). همچنین بین حداکثر رشد باکتری در نمونه شاهد و غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر تفاوت معنی‌دار نبود. حداکثر رشد باکتری *Pseudomonas sp.* در غلظت ۱۶۰ میلی‌گرم بر لیتر از یک سو با غلظت ۸۰ و از سوی دیگر با غلظت ۳۲۰ میلی‌گرم بر لیتر تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P \geq ۰/۰۵$).

Archive

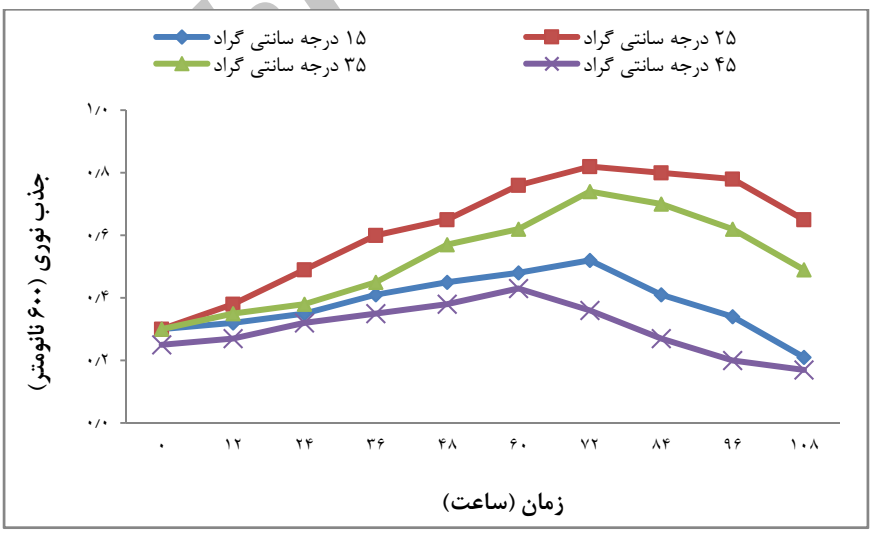
www.SID.ir



شکل۲: نمودار میله‌ای رشد باکتری *Pseudomonas sp.* در غلظت‌های مختلف فلز روی.

***حروف غیر همنام نشان‌دهنده اختلاف معنی دار بین غلظت‌های مختلف فلز**

باکتری *Pseudomonas sp.* بیشترین میزان رشد را در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد داشت و بیشترین میزان جذب نوری در این درجه حرارت به ثبت رسید. کمترین میزان رشد باکتری در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد بود. باکتری در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد رشد خود را با تاخیر آغاز می کند و به‌سرعت به حداکثر رشد خود می رسد. در حالی که باکتری در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد ۱۲ ساعت دیرتر به حداکثر رشد خود می رسد (شکل ۳).

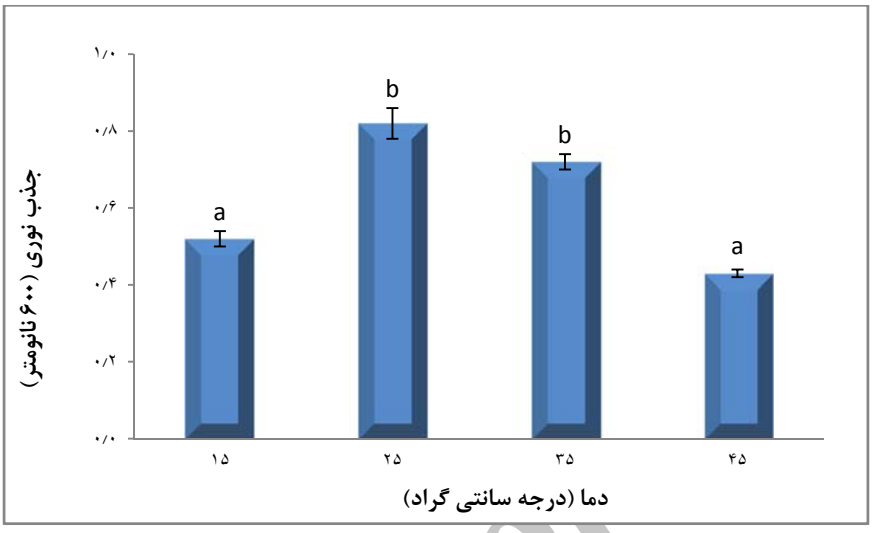


شکل۳: نمودار رشد باکتری *Pseudomonas sp.* در درجه حرارت‌های مختلف.

نمودار میله‌ای رشد باکتری *Pseudomonas sp.* در درجه حرارت‌های مورد مطالعه نشان داد که بین حداکثر رشد باکتری در درجه حرارت ۲۵ درجه سانتی‌گراد با حداکثر رشد آن در درجه حرارت‌های ۱۵ و ۴۵ درجه سانتی‌گراد اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P \leq ۰/۰۵$). همچنین بین حداکثر

www.SID.ir

رشد باکتری در ۱۵ و ۴۵ درجه سانتی‌گراد تفاوت قابل‌توجهی مشاهده نشد ($P \geq ۰/۰۵$). نتایج نشان می‌دهد بهترین دامنه دمایی برای رشد این باکتری ۲۵ تا ۳۵ درجه سانتی‌گراد می‌باشد (شکل ۴).



شکل٤: نمودار میله‌ای رشد باکتری *Pseudomonas sp.* در درجه حرارت‌های مختلف.

*حروف غیرهمنام نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار دردرجه حرارت‌های مختلف

نتایج حاصل از تست هالوفیته حاکی از هالوتولرانت بودن باکتری موردمطالعه می‌باشد(جدول ۲).

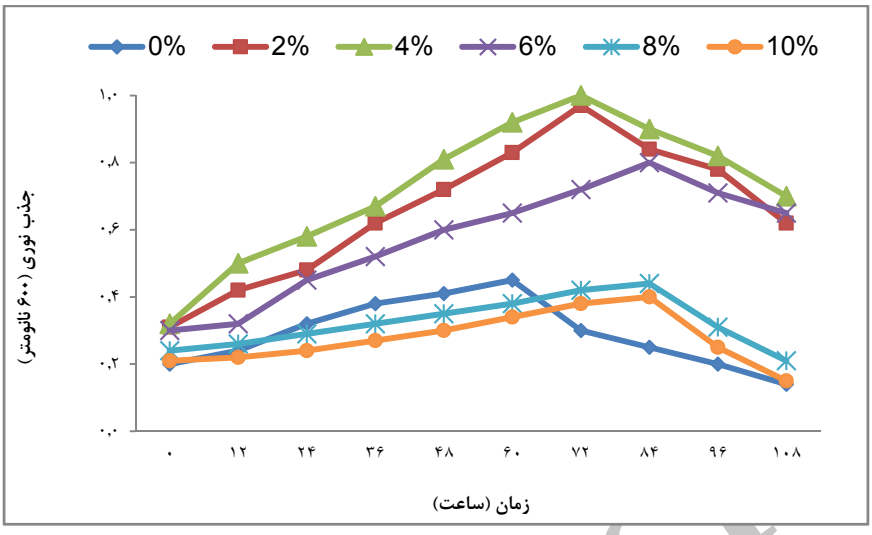
جدول ۲: نتایج حاصل از تست هالوفیته.

درصد نمک	0%	2%	4%	6%	8%	10%
رشد باکتری	(+)	++	++	+	(+)	(+)

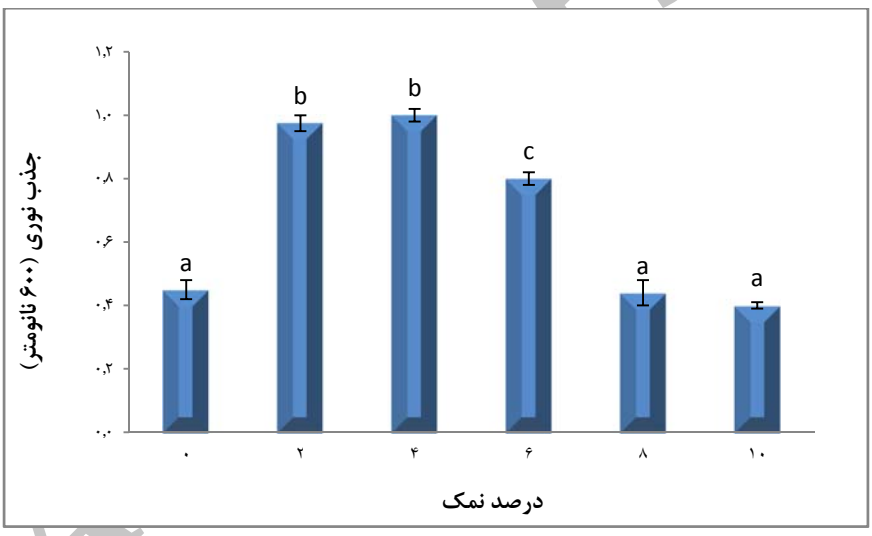
++: رشد خیلی خوب، +: رشد خوب، (+): رشد ضعیف، – : عدم رشد

با توجه به شکل‌های ۵ و ۶ ، باکتری *Pseudomonas sp.* حداکثر رشد را در غلظت‌های ۲ و ۴ درصد نمک داشت و کمترین میزان رشد در غلظت‌های ۰، ۸ و ۱۰ درصد نمک به ثبت رسید. باکتری در درصدهای بالا و پایین تر از حد مطلوب نمک، رشد خود را با تاخیر و به کندی طی می‌کند. با افزایش غلظت نمک در محیط زمان رسیدن باکتری به حداکثر رشد خود نیز افزایش می‌یابد. بین حداکثر رشد باکتری در غلظت ۲ و ۴ درصد نمک تفاوت قابل توجهی مشاهده نشد. همچنین رشد باکتری در غلظت ۶ درصد نمک با حداکثر رشد آن در سایر غلظت‌های نمک اختلاف معنی‌داری داشت ($P \leq ۰/۰۵$). این در حالی است که بین حداکثر رشد باکتری در غلظت‌های ۰، ۸ و ۱۰ درصد تفاوت محسوس نبود ($P \geq ۰/۰۵$).

Archive of SID
www.SID.ir



شکل۵: نمودار رشد باکتری *Pseudomonas sp.* در غلظت‌های مختلف نمک.



شکل ٦: نمودار میله‌ای رشد باکتری *Pseudomonas sp.* در غلظت‌های مختلف نمک

*حروف غیرهمنام نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در درصدهای مختلف نمک

بحث و نتیجه گیری

جنس *Pseudomonas* یک باکتری گرم‌منفی باسیلی است و در اکثر مناطق از جمله آب، خاک، پساب و محیطهای نمناک یافت می‌شود. این باکتری قادر است خود را با محیطهای حاوی انواع ترکیبات آلی و معدنی سمی سازگار کرده و آنها را از محیط حذف نماید. از جمله مطالعات صورت گرفته در زمینه توانایی حذف آلاینده ها از محیط توسط جنس سودوموناس در خلیج فارس و منطقه خورموسی، می‌توان به مطالعات Zolgharnein و همکاران (۲۰۰۷) اشاره کرد که در آن ۳۵ گونه باکتری مقاوم به فلزات سنگین را از خلیج فارس جداسازی نمودند و اکثر

www.SID.ir

گونه‌ها متعلق به جنس *Pseudomonas* تشخیص داده‌شدند. همچنین دو گونه متعلق به این جنس، *P.putida* strain 1389 و *P.stutzeri* strain MZQ-JX02 که بعنوان گونه‌های مقاوم به فلز مس از رسوبات خور موسی جداسازی شدند (آبیار و همکاران، ۱۳۸۹).

در مطالعه حاضر باکتری *Pseudomonas sp.* به‌عنوان یک گونه مقاوم به فلز روی از رسوبات آلوده خورموسی جداسازی گردید. بررسی رشد باکتری *Pseudomonas sp.* درحضور غلظت‌های مختلف فلز روی نشان داد که اگرچه رشد باکتری با افزایش غلظت فلز روی در محیط کاهش می‌یابد اما این باکتری قادر به رشد تا غلظت ۳۲۰ میلی‌گرم بر لیتر فلز می باشد. همچنین با افزایش غلظت فلز در محیط باکتری رشد خود را با تاخیر آغاز و دیرتر به حداکثر رشد خود می‌رسد. Andreoni و همکاران (۲۰۰۳)، باکتری *P.putida* را به‌عنوان گونه مقاوم به فلز روی جداسازی و با بررسی روند رشد باکتری در حضور و عدم حضور این فلز متوجه کاهش رشد باکتری در غلظت ۱ میلی‌مول بر لیتر فلز روی شدند. Edward raja و همکاران (۲۰۰۹)، باکتری *P.aerogionsa* را از پساب آلوده به فلزات سنگین جداسازی نمودند و به بررسی رشد آن در حضور غلظت‌های مختلف فلزات سرب، کادمیوم، کروم، آرسنیک و جیوه پرداختند. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت فلزات، باکتری رشد خود را با تاخیر آغاز و رشد کاهش می یابد. آبیار (۱۳۸۹) به بررسی توانایی رشد دو گونه جداسازی شده از رسوبات خورموسی، *P.putida* strain 1389 و*P.stutzeri* strain MZQ-JX02 در حضور غلظت‌های مختلف فلز مس پرداخت. نتایج حاکی از آن بود که با افزایش غلظت فلز مس از ۵۰ به ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر باکتری رشد خود را با تاخیر آغاز می‌کند. همچنین رشد باکتری به کندی صورت گرفته و مدت زمان سازگار شدن باکتری در غلظت های بالای فلز طولانی‌تر می‌باشد که تاییدی بر نتایج مطالعه حاضر است. علت کاهش رشد باکتری در غلظت‌های بالای فلز می‌تواند به دلیل افزایش سمیت فلز به دلیل افزایش غلظت آن در محیط باشد که این موضوع بر رشد باکتری اثر گذاشته و باعث تاخیر در آغاز رشد و رسیدن باکتری به فاز لگاریتمی شده و در نهایت مانع فرآیند تقسیم سلولی می‌گردد.

میزان رشد باکتری در درجه حرارت ۱۵، ۲۵، ۳۵ و ۴۵ درجه سانتی‌گراد مورد مطالعه قرار گرفت. افزایش در رشد باکتری با ایجاد کدورت در محیط کشت و بالا رفتن میزان جذب نوری همراه بود. دمایی که درآن باکتری بالاترین میزان جذب نوری را داشت به‌عنوان دمای مطلوب جهت رشد باکتری تعیین گردید.

بیشترین میزان رشد باکتری *Pseudomonas sp.* در محدوده دمایی ۲۵ تا ۳۵ درجه سانتی‌گراد اندازه گیری شد. باکتری در دمای بالاتر و پایین تر از رنج مطلوب رشد خود را با تاخیر آغاز نمود. وجود مرحله تاخیر در بالاتر از درجه حرارت مطلوب برای رشد باکتری می‌تواند به دلیل از دست رفتن فعالیت متابولیکی سلول در دماهای بالا باشد که این موضوع باعث به تاخیر افتادن فرایند تقسیم سلولی می‌گردد تا زمانی که باکتری خود را با شرایط دمایی موجود سازگار کرده و رشد خود را مجددا آغاز کند. از طرف دیگر تاخیر در رشد باکتری در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد به دلیل کاهش فعالیت آنزیم های اختصاصی است که باعث می‌شود باکتری دیرتر مرحله نمایی خود را آغاز کند (Cooper *et al.*, 2001; Nguyen, 2006). Edward raja و همکاران (۲۰۰۹)، رشد باکتری *P.aerogionsa* را در دمای۲۵، ۳۰، ۳۷ و ۴۰ درجه سانتی‌گراد در طول موج ۶۰۰ نانومتر دستگاه اسپکتروفتومتر بررسی کردند. نتایج نشان داد که دمای مطلوب برای رشد باکتری *P.aerogionsa* ، ۳۰ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. باکتری *P.aerogionsa* جزو باکتری‌های مزوفیل بوده که قادر به رشد در محدوده دمایی ۲۰ تا ۵۰ درجه سانتی‌گراد می باشد. اما این باکتری در دمای مطلوب باکتری‌های سرمادوست (۱۵-۰ درجه سانتی‌گراد) نیز قادر به رشد است (Zachariah and Liston, 1973).

یکی دیگر از عوامل موثر بر رشد و فعالیت میکروارگانیسم‌ها غلظت نمک در محیط می‌باشد. ورود میلیاردها گالن پساب با غلظت‌های بالای نمک (بیشتر از ۳,۵ ٪ نمک) در سال توسط صنایع مختلف فرآیند اصلاح زیستی توسط میکروارگانیسم‌ها را با مشکل روبرو می‌سازد. غلظت بالای نمک در محیط منجر به تخریب غشا سلولی و غیر فعال شدن بسیاری از آنزیم‌ها می‌شود و این شرایط برای میکروارگانیسم‌های حذف کننده آلاینده‌ها از محیط می‌تواند کشنده باشد (Kargi and Dincer, 2000).

Archive of SID

www.SID.ir

بهینه رشد باکتری‌های نمک دوست در غلظت‌های بالای نمک می‌باشد این در حالی است که باکتری‌های تحمل‌کننده نمک در غلظت‌های پایین‌تر رشد بهتری خواهند داشت (Ventosa *et al*., 1998). همچنین گروهی از میکروارگانیسم قادر به رشد در آب های شور و شیرین هستند که هالوتولرانت نامیده می شوند. این دسته از میکروارگانیسم ها قادرند محدوده شوری صفر تا ۶ درصد نمک را تحمل کرده، با شرایط محیطی جدید سازگار شده و در آن رشد کنند (Ventosa *et al*., 1998).

در مطالعه حاضر ابتدا میزان تحمل باکتری در حضور غلظت‌های مختلف نمک تست شد، سپس روند رشد آن در درصدهای مختلف نمک بررسی گردید. مطالعه توانایی تحمل غلظت‌های مختلف نمک توسط باکتری *Pseudomonas sp.* نشان داد که این باکتری، هالوتولرانت بوده و قادر به تحمل دامنه شوری ۰ تا ۱۰ درصد نمک می باشد. افزایش غلظت نمک می تواند از طریق افزایش فشار اسمزی محیط اثر منفی بر فعالیت میکروارگانیسم‌ها بگذارد. نتایج حاصل از مطالعه روند رشد باکتری در درصدهای مختلف نمک نیز حاکی از آن است که افزایش غلظت نمک باعث ایجاد تاخیر در ابتدای رشد باکتری می‌گردد و باکتری دیرتر به رشد حداکثری خود می‌رسد. با این حال باکتری قادر به رشد در شوری ۸ و ۱۰ درصد نمک نیز می‌باشد. طولانی شدن مرحله تاخیری در فرایند رشد باکتری در غلظت‌های بالای نمک به دلیل اثرات مهاری نمک بر میکروارگانیسم‌هاست. با افزایش غلظت نمک به بیش از حد بهینه زمان سازگاری باکتری با محیط افزایش می‌یابد. در این حالت رشد باکتری کاهش یافته و ساخت بیومس به کندی صورت می‌پذیرد اما از آنجاییکه باکتری مذکور هالوتولرانت محسوب می گردد، قادراست یون‌های نمکی مازاد را به بیرون از سلول پمپ و تعادل مناسب بین غلظت درون سلول با محیط را ایجاد کند (Ventosa *et al*., 1998; Moradi *et al*., 2008).

در مطالعه حاضر باکتری *Pseudomonas sp.* بعنوان باکتری مقاوم به فلز روی از رسوبات خور موسی جداسازی گردید. نتایج بررسی رشد باکتری در غلظت‌های مختلف فلز نشان داد که این باکتری قادر به تحمل و رشد تا غلظت ۳۲۰ میلی گرم بر لیتر فلز می باشد. از این‌رو گزینه مناسبی برای جذب و حذف فلز روی از پساب صنایع و اکوسیستم‌های آلوده به این فلز محسوب می‌گردد. همچنین هالوتولرانت بودن باکتری *Pseudomonas sp.*، این مزیت را به‌همراه دارد که بتوان از آن جهت پاکسازی محیط و یا پساب‌های صنایع با شوری‌های بسیار بالا و بسیار پایین استفاده نمود. باکتری فوق هالوتولرانت بوده که این امکان را به آن می‌دهد که بتواند در اکوسیستم‌های متفاوت از لحاظ درصد نمک فعالیت کنند. از این‌رو میتوان از این باکتری جهت حذف آلاینده‌ها به‌خصوص فلزروی از پساب صنایع با شوری‌های بالا و در خلیج‌فارس با شوری ۳/۵ درصد، دریای‌عمان با شوری ۳ درصد و دریای‌خزر با شوری ۱ درصد نمک استفاده نمود.

منابع

آبیار، ه. ۱۳۸۹. جداسازی و شناسایی باکتری‌های دریایی مقاوم به فلزات مس و کادمیوم در بندر امام خمینی و تعیین کارایی آنها در حذف بیولوژیکی فلزات از محیط. پایان نامه دوره کارشناسی ارشد رشته بیولوژی دریا، دانشگاه علوم دریایی خرمشهر، ۱۱۴ ص.

ابراهیمی پور، غ.، امینیان، م. و ابوالحسنی سورکی، ع. ۱۳۸٤. جداسازی یک باکتری هالوتولرانت نفت‌خوار و بررسی اثر فاکتور های محیطی در تجزیه زیستی نفت خام به منظور حفظ محیط زیست. مجله علوم محیطی، شماره ۸، صفحات ۷۴- ۶۵.

جاوید، ا. ح.، صمدیار، ح.، ۱۳۸٦. مدل‌سازی تاثیر تغییر pH در انتقال فلزات سنگین (نیکل و کادمیوم) ناشی از فعالیت‌های پتروشیمی بندر امام خمینی در خلیج فارس (خور موسی). مجله علوم و تکنولوژی محیط زیست، ۴(۹):۱-۱۳.

شکیبایی، م. ر.، خسروان، آ.، فرهمند، آ. و زارع، س.، ۱۳۸۷. حذف فلزات سنگین مس و روی از پسمان‌های صنعتی یکی از کارخانجات صنعتی کرمان توسط باکتری‌های مقاوم جهش یافته جذب کننده فلز. مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان، ۱۶(۱): ۱۳-۲۴.

Archive of SID
www.SID.ir

کریم سلمانی، ب.، آموزگار، م. ح. و حامدی، ج.، ۱۳۹۰. جذب زیستی سرب توسط باکتری‌های جداشده از پساب‌های صنایع پتروشیمی. مجله علوم و تکنولوژی محیط زیست، ۱۳(۲):۴۱-۵٤.

Abyar, H., Mojodi, F., Safahieh, A., Zolgharnein, H. and Zamani, I., 2011. The role of *Pseudomonas putida* in bioremediation of naphthalene and copper. World Journal of Fish and Marine Sciences. 5: 444-449.

Andreoni, V., Colombo, M., Colombo, A., Vecchio, A. and Finoli, C., 2003. Cadmium and zinc removal by growing cells of *pseudomonas putida* strain B14 isolated from a metal-impacted soil. Annals of Microbiology. 53: 135-148.

Chovanova, K., Sladekova, D., Kmet, V.; Proksova,M., Harichova, J., Puskarova, A., Polek, B. and Ferianc, P., 2004. Identification and characterization of eight cadmium resistant bacterial isolates from a cadmium-contaminated sewage sludge. Biological Bratislava, 6: 817-827.

Cooper, V. S., Bennet, A. F. and Lenski R. E., 2001. Evolution of thermal dependence of growth rate of Escherichia coli population during 20,000 generations in a constant environment. Evolution, 55 (5): 889-896.

Dzairi, F.Z., Zeroual, Y., Moutaouakkil, A., Taoufik, J., Talbi, M., Loutfi, M., Lee, K. and Blaghen, M., 2004. Bacterial volatilization of mercury by immobilized bacteria in fixed and fluidized bed bioreactors. Annals of Microbiology, 54(4): 353-364.

Edward Raja, Ch., Anbazhagan, K. and Sadasivam Selvam, G., 2006. Isolation and Characterization of A Metal-resistant *Pseudomonas aeruginosa* Strain, World Journal of Microbiology and Biotechnology, 22: 577-585.

Hussain, M.A., Salleh, A. and Milow, P., 2009. Charachterization of the adsorption of the lead (II) by the nonliving biomass Spirogyra neglecata (Hasall) Kutzing. American Journal of Biochemistry and Biotechnology, 2: 75-83.

Kargi, F. and Dincer, A., 2000. Use of halophilic bacteria in biological treatment of saline wastewater by fed-batch operation. Water Environmental Research, 72:170-174.

Kim, S.U., Cheong, Y.H., Seo, D.C., Hur, J.S., Heo, J.S. and Cho, J.S., 2007. Characterisation of heavy metal tolerance and biosorption capacity of bacterium strain CPB4 (*Bacillus spp.*). Water Science and Technology, 55(1-2): 105-111.

Khanafari, A., Eshghdoost, S. and Mashinchian, A., 2008. Removal of lead and chromium from aqueous solution by *Bacillus circulans* biofilm. Iran Journal Environment Health Science Engineering, 5(3). 195-200.

Leung, W. C., Wong, M. F., Chua, H., Lo, W., Yu., P. H. F. and Leung, C. K., 2000. Removal and recovery of heavy metals by bacteria isolated from activated sludge treating industrial effluents and municipal wastewater. Water Science and Technology, Vol. 14, No. 12, PP. 233-240.

Moradi, A., Tahmourespour, A., Hoodaji, M. and Khorsandi, F., 2011. Effect of salinity on free living - diazotroph and total bacterial populations of two saline soils. African Journal of Microbiology Research, 5(2):144-148.

Nguyen, M.T., 2006. The effect of temperature on the growth of the bacteria Escherichia coli DH5α. Saint Martin's University Biology Journal, 1: 87-94.

Okanlawon, B. M., Ogunbanwo, S. T. and Okunlola, A. O., 2010. Growth of *Bacillus cereus* isolated from some traditional condiments under different regimens. African Journal of Biotechnology, 8(14): 2129-2135.

Safahieh, A., Abyar, H., Roostan, Z., Zolgharnein, H. and Mojodi, F., 2012. Isolation and characterization of *Pseudomonas* resistant to heavy metals and poly aromatics hydrocarbons (PAHs) from Persian Gulf sediments. African Journal of Biotechnology, 11(19): 4418-4423.

Saleem Khan, A., Sheik Ali, M. and Juned Ahmed Baig, I., 2009. Halophilic (aerobic) bacterial growth rate of mangrove ecosystem. Journal of Environmental Biology, 30(5): 705-707.

Shirdam, R., Khanafari, A. and Tabatabaee, A., 2006. Cadmium, nickel and vanadium accumulation by three strains of marine bacteria. Iranian Journal of Biotechnology, 4(3): 180-187.

Ventosa, A., Nieto, J. J. and Oren, A., 1998. Biology of moderately holophilic aerobic bacteria. Microbiologyand Molecular BiologyReviews June, 504-544.

Volesky, B., 2001. Detoxification of metal-bearing effluents: biosorption for the next century. Hydrometallurgy, No. 59, pp. 203–16.

Archive of SID

www.SID.ir

Wang, J. L. and Chen, C., 2009. Biosorbents for heavy metals removal and their future. Biotechnology, 27: 195–226.

Zachariah, P. and Liston, J., 1973. Temperature Adaptability of Psychrotrophic Pseudomonas. Applied Microbiology, 26 (3): 437-438.

Zolgharnein, H., Mohd Azmi, M. L., Saad, M. Z., Mutalib, A. R. and Mohamed, C., 2007. Detection of plasmids in heavy metal resistance bacteria isolated from the Persian Gulf and enclosed industrial areas. Iranian Journal of Biotechnology, 5(4): 232-239.

Archive of SID

www.SID.ir